



REC'D - 2 JUN 1998

WIPO

PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION**PRIORITY DOCUMENT****COPIE OFFICIELLE**

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **09 AVR. 1998**

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS Cédex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Code de la propriété intellectuelle-Livre

cerfa
N° 55-1321**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES

24.FEV.1998

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

98 02212-

DEPARTEMENT DE DÉPÔT

DATE DE DÉPÔT

24.FEV.1998

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE**CABINET LAVOIX**
2 Place d'Estienne d'Orves
75441 PARIS CEDEX 09

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

☒ brevet d'invention☐ demande divisionnaire☐ certificat d'utilité☐ transformation d'une demande
de brevet européen☒ demande initiale☐ brevet d'invention

n° du pouvoir permanent références du correspondant téléphone

BIF 98/0093

53-20-14-20

date

Établissement du rapport de recherche

☐ diffère☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

☐ oui☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

**Peptides synthétiques consensus utilisables dans les essais biologiques pour la détection
des infections dues aux virus VIH 1 du groupe O.**

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

PASTEUR SANOFI DIAGNOSTICS

Forme juridique

Nationalité (s)

Française

Adresse (s) complète (s)

3, Boulevard Raymond Poincaré 92430 MARNES LA COQUETTE

Pays

FR

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs

☐ oui☒ non

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES

☐ requise pour la 1ère fois☐ requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS antérieures à la présente demande n°

date

n°

date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

(nom et qualité du signataire - n° d'inscription)

CABINET LAVOIX

M. DOULENSKY n° 02-1114

SIGNATURE DU PROPOSÉ À LA RÉCEPTION : SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

697

THIS PAGE BLANK (USPTO)

L'invention concerne des peptides synthétiques utilisables dans les essais biologiques pour la détection des infections dues aux virus VIH-1 du groupe O. leur procédé de préparation, des compositions et des troussees contenant de tels peptides ainsi que les essais biologiques mettant en oeuvre de tels peptides.

5

Des rétrovirus VIH-1 du groupe O sont connus dans l'art antérieur. Le brevet EP 0 345 375 et la demande de brevet EP 0 657 532 décrivent les isolats ANT 70 et ANT 70 NA isolés chez des malades Camerounais. Ces documents décrivent plus précisément des antigènes et des compositions antigéniques
10 contenant des lysats ou des protéines de ces isolats, les acides nucléiques correspondant à l'ARN génomique, des méthodes d'hybridation mettant en oeuvre ces acides nucléiques, des méthodes de production des isolats dénommés ci-dessus ainsi que des procédés de préparation de protéines p12, p16, p25, gp41 gp120 de ces rétrovirus.

15

La demande EP 0 591 914 décrit l'isolat MVP 5180/91. Cet isolat caractérisé par Western Blot présente, comme l'isolat précédent, des différences par rapport aux isolats du rétrovirus VIH-1 connus depuis longtemps. La demande EP 0 591 914 décrit précisément la séquence d'ADN de l'isolat MVP 5180/91 et indique précisément la localisation des gènes gag, pol et env. La
20 demande EP 0 591 914 décrit encore des peptides synthétiques de la boucle V3 ainsi que de la région immunodominante (gp41). Ces derniers sont utiles pour des essais biologiques, notamment pour la détection, *in vitro*, des anticorps VIH-1 du groupe O.

25

La demande EP 0 673 948 décrit des peptides synthétiques ou recombinés constitués de 15 à 50 acides aminés (AA) et comportant la séquence
-VWGIRQLRRLQALETLIQNQQRLNLWGXXGKGLIXYTSVKWNTSWSGR- dans laquelle X représente soit un résidu de cystéine, soit un résidu de sérine. Ces
30 peptides sont utiles dans le domaine diagnostique pour la détection des infections dues à certains isolats de rétrovirus VIH-1 du groupe O.

35

On connaît également la demande EP 0 727 483 qui décrit l'isolat MVP 2901/94 qui fait aussi partie des rétrovirus appartenant à la famille VIH-1 du groupe O. Cette demande décrit certains antigènes ayant des séquences peptidiques bien déterminées. Ces séquences peptidiques correspondent à une partie de la séquence de la gp120 de l'isolat MVP 2901/94.

La demande WO 96/12809 décrit deux nouveaux isolats appartenant à la famille VIH-1 du groupe O. Il s'agit des isolats VAU et DUR. Cette demande décrit certaines séquences peptidiques issues des deux virus cités ci-dessus, utiles pour la détection d'anticorps reconnaissant les séquences peptidiques

5 VIH-1 VAU ou DUR.

La demande WO 96/32293 décrit deux antigènes issus de la séquence de l'isolat ANT 70. Il s'agit de l'antigène appelé MDL061 et de l'antigène MDL056, de la région immunodominante de la gp41. Selon cette invention, pour détecter

10 100% des échantillons des sérums de malades infectés par le virus de VIH-1 du groupe O, il est nécessaire d'utiliser des compositions contenant ces deux peptides, puisque chaque peptide isolé ne permet pas à lui seul d'obtenir des résultats satisfaisants.

En effet, il est connu, que même lorsque l'on utilise des réactifs sérologiques issus des isolats du groupe O, il n'est pas souvent possible de dépister tous les malades infectés par des rétrovirus VIH-1 du groupe O ; cela signifie qu'il n'est pas possible d'obtenir des réactifs qui garantissent 100% de sensibilité. Le groupe O ainsi soulève pour la première fois un problème

15 important ; il s'agit de l'inadéquation de certains réactifs sérologiques à reconnaître des individus contaminés par des groupes ou sous-types particulièrement divergents. C'est le cas justement des VIH1 du groupe O.

20

La demande WO 96/40763 insiste aussi sur la grande divergence du

25 groupe O. Cette demande décrit des peptides qui incorporent, dans une séquence naturelle VIH-1 de type B, quelques petites modifications (remplacement d'un ou de deux acides aminés). Selon cette demande, ces peptides hybrides sont capables de réagir avec des anticorps anti groupe O.

La demande WO 96/27013 décrit une série de nouveaux virus VIH1 du

30 groupe O désignés BCF 01, BCF 02, BCF 03, BCF06, BCF 07, BCF 08, BCF09, BCF11, BCF12, BCF13 et BCF14 ainsi qu'une série de peptides de la région dominante de la gp41 correspondante dénommés ESS/BCF02, FAN/BCF01, LOB/BCF06, MAN/BCF07, NKO/BCF08, POC/BCF03, NAN/BCF11, BCF09,

35 BCF12, BCF13 et BCF14. Un certain nombre de ces peptides sont peu maniables en diagnostic à cause de leur faible solubilité, notamment le peptide BCF13.

De manière inattendue, il a été maintenant trouvé que certains peptides synthétiques sont des réactifs diagnostiques de qualité supérieure et permettent de dépister de manière satisfaisante les malades infectés par les rétrovirus VIH-1 du groupe O. Ces peptides sont composés de séquences variables articulées
 5 autour de courtes séquences très conservées, présentes dans les isolats des rétrovirus VIH-1 du groupe O. Les peptides de l'invention permettent d'obtenir des résultats beaucoup plus performants que ceux obtenus avec des peptides synthétiques porteurs d'épitopes immunodominants de la gp41 (env) de certains isolats VIH-1 du groupe O.

Par la suite, pour dénommer les acides aminés, on utilisera la nomenclature à trois lettres.

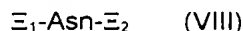
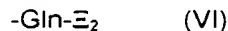
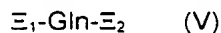
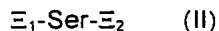
Les peptides synthétiques de l'invention répondent à la formule
 15 générale (I) :



dans laquelle :

- Δ représente un radical biotinyle, un radical biocytinyle, un atome d'hydrogène, un radical acétyle ($\text{CH}_3\text{CO-}$), une chaîne aliphatique pouvant contenir une ou deux fonctions thiol, aldéhyde ou amine, la chaîne aliphatique étant de préférence une chaîne alkyle de 1 à 6 atomes de carbone ou une chaîne alcényle de 2 à 6 atomes de carbone, ou une chaîne aminoalkylcarbonyle de 2 à 6 atomes de carbone,

-Z représente une séquence peptidique d'une des formules (II) à (X) :

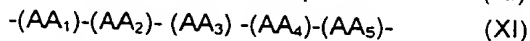


dans lesquelles :

Ξ_1 représente une séquence peptidique de 0 à 9 acides aminés et

$-\Xi_2$ représente une séquence peptidique de 0 à 5 acides aminés.

$-\Theta$ représente une séquence peptidique de formule (XI) :

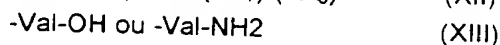
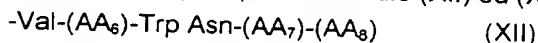


dans laquelle :

- (AA₁) représente soit un résidu lysine, soit un résidu arginine, soit un résidu ornithine,
 - (AA₂) représente soit un résidu glycine, soit un résidu asparagine,
 - (AA₃) représente soit un résidu lysine, soit un résidu arginine, soit un résidu ornithine,
 - (AA₄) représente soit un résidu leucine, soit un résidu alanine, soit un résidu isoleucine, soit un résidu glutamine,
 - (AA₅) représente soit un résidu isoleucine, soit un résidu valine, soit un résidu leucine, soit un résidu thréonine, soit un résidu norleucine, soit un résidu norvaline,
- à condition toutefois que (AA₁), (AA₂), (AA₃), (AA₄) et (AA₅) ne forment jamais ensemble les séquences peptidiques -Lys Gly Lys Leu Ile- et -Lys Gly Lys Leu Val-,

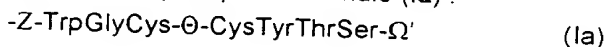
$-\Omega$, fixé sur le groupe $-\text{CO}-$ de la sérine représente :

- un groupe hydroxyle ($-\text{OH}$) ou amino ($-\text{NH}_2$),
- un radical alcoxy comportant de 1 à 6 atomes de carbone,
- une séquence peptidique de formule (XII) ou (XIII) :



dans lesquelles :

- (AA₆) représente un acide aminé différent de la lysine,
 - (AA₇) représente un acide aminé,
 - (AA₈) représente un résidu sérine ou thréonine,
- ou une séquence peptidique de formule (Ia) :



dans laquelle Z et Θ ont la définition donnée pour la formule (I) et Ω' représente un radical hydroxy (OH), un radical amino (NH_2), un radical alcoxy comportant de 1 à 6 atomes de carbone ou une séquence peptidique de formule (XII) ou (XIII).

Lorsque Ω représente une séquence peptidique de formule (Ia), le peptide de formule (I) devient un dimère, dont la taille peut varier de 26 à 66 acides aminés. Lorsque Ω ne représente pas une séquence peptidique de formule (Ia),

les peptides selon l'invention, de formule (I) sont de type monomère et la taille peut varier de 13 à 33 acides aminés.

Les peptides selon l'invention peuvent être soit sous forme linéaire, soit
5 sous forme cyclisée par l'intermédiaire de ponts disulfures inter-cystéines.

On préfère les composés de la formule (I) dans laquelle (AA_5) représente soit un résidu valine, soit un résidu leucine, soit un résidu thréonine, et lorsque Ω correspond à une séquence peptidique de formule (XII) (AA_6) représente soit
10 un résidu glutamine, soit un résidu arginine.

On préfère les peptides de formule (I) dans laquelle :

- Δ représente un radical biotinyle, un atome d'hydrogène, ou une chaîne aliphatique pouvant contenir une ou deux fonctions thiol, aldéhyde ou amine, la
15 chaîne aliphatique étant de préférence une chaîne alkyle de 1 à 6 atomes de carbone, ou une chaîne aminoalkylcarbonyle de 2 à 6 atomes de carbone,

-Z représente une séquence peptidique de formule (II) ou (V) dans lesquelles Ξ_1 représente une séquence peptidique de deux acides aminés et Ξ_2 représente un acide aminé, ou une séquence de formule (IV) dans laquelle Ξ_1
20 représente trois acides aminés, ou une séquence peptidique de formule (VIII) dans laquelle Ξ_1 représente une séquence peptidique de neuf, huit ou trois acides aminés et Ξ_2 une séquence peptidique de cinq acides aminés,

- Θ représente une séquence peptidique de formule :

-Lys Gly Arg Leu Val-

25 ou

- Arg Gly Arg Leu Val-

et

- Ω représente un groupe hydroxyle, la séquence peptidique (XIII) ou une séquence peptidique de formule :

30 - Val Arg Trp Asn Glu Thr

De préférence Z représente une séquence peptidique de formule :

- -Leu Leu Ser Ser-
- -Leu Leu Asn Ser-
- 35 • -Arg Leu Asn Ser-
- -Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ser-
- -Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ile -
- -Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser-

ou

- -Arg Ala Leu Glu Thr Leu Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser-

On préfère tout peptide incluant l'une des séquences suivantes comportant de 16 à 50 acides aminés. Ces séquences sont données selon les nomenclatures à une et à trois lettres :

Séquence N° 1 :

-LLSSWGCKGRLVCYTS-

10 ou

-Leu Leu Ser Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser-
 1 5 10 15

Séquence N° 2 :

15 -LLNSWGCKGRLVCYTS-

ou

-Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser-
 1 5 10 15

20 Séquence N° 3 :

-ALETLLQNQQLLNSWGCRGRLVCYTSVRWNET-

ou

-Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Arg Gly
 1 5 10 15
 25 Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr-
 20 25 30

Séquence N° 4 :

-ALETLLQNQQLLNIWGCRGRLVCYTSVRWNET-

30 ou

-Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ile Trp Gly Cys Arg Gly
 1 5 10 15
 Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr-
 20 25 30

35

Séquence N° 5 :

-ALETLLQNQQLLDLWGCRGRLVCYTSVRWNET-

ou

7

-Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asp Leu Trp Gly Cys Arg Gly
1 5 10 15
Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr-
20 25 30

5

Séquence N° 6 :

-LNQQRLLNSWGCKGRLVCYTSV-

ou

-Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr
10 1 5 10 15
Thr Ser Val-
20

Séquence N° 7 :

15 -RALETLLNQQRLLNSWGCKGRLVCYTSV-

ou

- Arg Ala Leu Glu Thr Leu Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys
Lys
1 5 10 15
20 Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val-
20

Séquence N° 8 :

-RLNSWGCKGRLVCYTSV-

25 ou

- Arg Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val-
1 5 10 15

30 Les peptides synthétiques ci-après sont des peptides particulièrement
préférés :

Peptide N° 1 (12B) :

LLSSWGCKGRLVCYTS

ou

35 Leu Leu Ser Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser
1 5 10 15

Peptide N° 2 (14B) :

LLNSWGCKGRLVCYTS

ou

Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser
 5 1 5 10 15

Peptide N° 3 (18B) :

ALETLLQNQQLLNSWGCRGRLVCYTSVRWNET

10 ou

Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Arg Gly
 1 5 10 15

Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr
 20 25 30

15

Peptide N° 4 (19B) :

ALETLLQNQQLLNIWGCRGRLVCYTSVRWNET

ou

Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ile Trp Gly Cys Arg Gly
 20 1 5 10 15

Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr
 20 25 30

Peptide N° 5 (20B) :

25 ALETLLQNQQLLDLWGCRGRLVCYTSVRWNET

ou

-Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asp Leu Trp Gly Cys Arg Gly
 1 5 10 15

Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr
 30 20 25 30

Peptide N° 6 (21B) :

LNQQRLLNSWGCKGRLVCYTSV

ou

Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr
 35 1 5 10 15

Thr Ser Val

20

Peptide N° 7 (22B) :

RALETLLNQQRLLNSWGCKGRLVCYTSV

ou

5 Arg Ala Leu Glu Thr Leu Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys
 1 5 10 15
 Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val
 20 25

10 Peptide N° 8 (23B) :

RLNSWGCKGRLVCYTSV

ou

Arg Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val
 1 5 10 15
 15

Les peptides synthétiques de formule (I), objet de la présente invention, peuvent être obtenus par synthèse en phase solide selon des méthodes classiques : R.B. Merrifield, *J. Amer. Chem. Soc.* (1963), 85, pp. 2149-2154 ; R.C. Sheppard, in « *Peptides 1971* », Nesvadba H. (ed.) North Holland, Amsterdam, pp. 111 ; E. Atherton and R.L. Sheppard, in « *Solid phase peptide synthesis, a practical approach* », IRL PRESS, (1989), Oxford University Press, pp. 25-34. Comme synthétiseur automatique, on peut utiliser le synthétiseur « 9050 Plus Pep Synthesizer » de Millipore ou un synthétiseur équivalent.

25 Le support solide, utilisé pour les synthèses, doit être compatible avec la technique et la chimie utilisées. Par exemple, pour une synthèse sur le synthétiseur « 9050 Plus pep. Synthesizer », il est recommandé d'utiliser une résine adaptée à la technique dite « en flux continu » : les résines PEG PS répondent à ces critères. Ces supports sont constitués d'un bras (« spacer ») à base de polyéthylène glycol (PEG) situé entre le groupement fonctionnel du polystyrène des billes et le point d'accrochage du premier acide aminé. La nature de ce point d'ancrage peut varier selon la fonction C-terminale choisie. Dans le cas présent, différentes résines PEG-PS ont été utilisées.

35 La résine de départ et les acides aminés utilisés comme matière première sont des produits disponibles dans le commerce (PerSeptive-Biosystem, ou Néosystem).

Pour la synthèse peptidique, les groupements protecteurs de chaînes latérales suivants ont été utilisés :

Acides aminés	Groupe ment protecteur
Arginine	Pentaméthyl-2,2,4,6,7-dihydrobenzofurane-5-sulfonyl (Pbf)
Asparagine, Glutamine	Trityle (Trt)
Cystéine	Trityle (Trt) ou Acétamidométhyle (Acm)
Sérine, Thréonine, Tyrosine	Ether tert-butyle (tBu)
Lysine, Tryptophane	Tert-butyloxycarbonyl (Boc)

5 La protection temporaire de la fonction amine primaire en α des acides aminés utilisée est le groupement 9-fluorénylméthoxycarbonyl (Fmoc). La déprotection est effectuée par une solution de pipéridine à 20% en diméthylformamide.

Pour le couplage, on utilise de préférence un excès de diisopropylcarbodiimide (DIPCDI) et d'hydroxy-1-benzotriazole (HOBt).

10 Après synthèse, la résine est lavée avec des solvants organiques, (diméthylformamide, puis dichlorométhane) séchée sous vide puis traitée par une solution à base d'acide trifluoroacétique (TFA) refroidie à 0°C et contenant des « scavengers » appropriés. On peut utiliser, par exemple, le réactif K
15 contenant 82% d'acide trifluoroacétique, 5% de phénol, 5% d'eau, 5% de thioanisole et 3% d'éthanedithiol.

Après filtration de la résine, les peptides synthétiques sont précipités et rincés à l'éther.

20 Les peptides synthétiques sont ensuite purifiés par chromatographie liquide en phase inverse et leur pureté est déterminée par spectrométrie de masse. Comme phase solide, on peut utiliser, par exemple, la phase Bondapack C-18. Les peptides sont élués en réalisant un gradient linéaire entre deux solutions tampons, le premier essentiellement aqueux (par exemple eau-TFA 0,1 %) et le second plutôt organique (par exemple un mélange contenant
25 d'acétonitrile 60 %, eau 39,92 % et TFA 0,08 %). Les fractions pures collectées sont rassemblées, concentrées sous vide et lyophilisées.

Pour la cyclisation, les peptides synthétiques purifiés sont dissous dans une solution d'acétate d'ammonium (10mM). Le pH est ajusté à 8.5 par addition d'ammoniaque 1 M. La solution est vigoureusement agitée. La cyclisation est

complète après 18 heures. Le pH est ensuite abaissé à 6 par addition d'acide acétique. Les peptides cyclisés sont lyophilisés, puis purifiés par chromatographie liquide en phase inverse comme cela a été décrit précédemment.

5

L'immunoréactivité des peptides de l'invention a été évaluée à l'aide de sérums de malades camerounais infectés par des rétrovirus VIH-1 du groupe O. Les différents essais effectués ont démontré que les peptides de l'invention, seuls ou en association (compositions de peptides), permettent de détecter

10

100% des sérums infectés par des rétrovirus VIH-1 du groupe O.

Les peptides synthétiques de l'invention trouvent donc leur application dans les immunoessais pour le dépistage des infections dues aux rétrovirus VIH-1 du groupe O. Il est également possible d'utiliser des compositions de peptides synthétiques de formule (I). Ces compositions, qui peuvent contenir deux ou

15

plusieurs peptides de formule (I), font aussi partie de l'invention.

Il est également possible d'utiliser des peptides synthétiques de formule (I) de la présente invention en association avec des peptides recombinés VIH-1 du groupe O tels qu'ils peuvent être obtenus par des méthodes classiques et ayant les séquences décrites dans la demande EP 0 591 914. De telles compositions entrent aussi dans le cadre de la présente invention.

20

Les peptides synthétiques de l'invention peuvent être également utilisés en association avec d'autres peptides synthétiques ou recombinés VIH-1 et/ou VIH-2, tels que les peptides décrits dans les demandes de brevets ou brevets EP 0 387 914, EP 0 239 425, EP 0 220 273, ou EP 267 802. Cette liste de demandes de brevets ou brevets n'est pas exhaustive et est donnée à titre d'exemple.

25

30

Les compositions contenant un ou plusieurs peptides synthétiques de formule (I) et un ou plusieurs peptides synthétiques ou recombinés VIH-1 ou VIH-2 trouvent leur application en diagnostic pour le dépistage de malades infectés par différents rétrovirus VIH. Ces compositions font également partie de la présente invention.

35

Des procédés d'immunodosage utilisant un ou plusieurs peptides synthétiques de formule (I), seuls ou en association avec des peptides recombinés VIH-1 du groupe O ou des peptides synthétiques ou recombinés VIH-1 et/ou VIH-2, font également partie de l'invention.

5

L'invention vise également des trousse, pour la mise en oeuvre d'immunodosages, qui incluent un peptide de formule (I) ou une composition qui contient au moins un peptide de formule (I).

10

Les exemples suivants illustrent l'invention et sont donnés à titre non limitatif.

EXEMPLE 1 :

15

Préparation d'un composé selon l'invention : PEPTIDE N° 7 (22B)

Le peptide N° 7 (22B) a été synthétisé en phase solide. La technique mise au point en 1963 par Merrifield (*J. Am. Chem. Soc.* (1963) 85, pp. 2149-2154) consiste à fixer le premier acide aminé sur un support solide polymérique (résine) par sa fonction acide et à allonger la séquence peptidique à partir de ce premier acide aminé, le peptide en cours de synthèse restant ancré sur la résine.

20

Pour la synthèse du peptide N° 7 (22B), ont été utilisés, comme synthétiseur, le synthétiseur « 9050 Plus Pep Synthetiser » et comme résine, la résine Fmoc PAL PEG-PS.

25

Les différentes étapes de la synthèse sont résumées dans le tableau I ci-après :

Tableau I

RESIDU ACIDE AMINE	PROTECTION NH ₂	PROTECTION LATERALE	METHODE DE COUPLAGE	NOMBRE D'EQ - DUREE DE COUPLAGE
Val	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Ser	Fmoc	tBu	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Thr	Fmoc	tBu	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Tyr	Fmoc	tBu	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Cys	Fmoc	Trt	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Val	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Leu	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Arg	Fmoc	Pbf	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Gly	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Lys	Fmoc	Boc	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Cys	Fmoc	Trt	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Gly	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Trp	Fmoc	Boc	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Ser	Fmoc	tBu	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Asn	Fmoc	Trt	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Leu	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Leu	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Arg	Fmoc	Pbf	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Gln	Fmoc	Trt	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Gln	Fmoc	Trt	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Asn	Fmoc	Trt	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Leu	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Leu	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Thr	Fmoc	tBu	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Glu	Fmoc	OtBu	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Leu	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Ala	Fmoc		DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn
Arg	Fmoc	Pbf	DIPCDI/HOBt	5 eq - 45 mn

Après la fin de la synthèse, la résine a été lavée avec du
5 diméthylformamide, puis du dichlorométhane et séchée sous vide.

Ensuite, la résine a été traitée avec du réactif K (acide trifluoacétique 82 % ; phénol 5 % ; eau 5 % ; thioanisol 5 % ; éthanedithiol 3 %). Le peptide N°7 (22B) isolé par précipitation à l'aide de dioxyde de diéthyle, a été ensuite rincé avec le même solvant. On a ainsi obtenu 140 mg du peptide N° 7 (22B).

5 Le peptide N°7 (22B) a été ensuite purifié par chromatographie liquide en phase inverse. Comme phase solide, il a été utilisé la phase Bondapack C-18. Le peptide a été élué en réalisant un gradient linéaire entre deux solutions tampons, le premier essentiellement aqueux (par exemple eau-TFA 0,1 %) et le second plutôt organique (par exemple un mélange contenant : acétonitrile 60 %, 10 eau 39,92 % et TFA 0,08 %). Les fractions pures collectées ont été rassemblées, concentrées sous vide et lyophilisées.

Pour la cyclisation, le peptide synthétique purifié, ainsi obtenu a été dissous dans une solution d'acétate d'ammonium (10mM). Le pH a été ajusté à 8,5 par addition d'ammoniaque 1 M. La solution a été vigoureusement agitée. La 15 cyclisation a été complète après 18 heures. Le pH a été ensuite abaissé à 6 par addition d'acide acétique. Le peptide cyclisé a été lyophilisé, puis purifié par chromatographie liquide en phase inverse comme cela a été décrit précédemment.

20 De manière équivalente, et en utilisant les résines et acides aminés appropriés, les autres composés de l'invention ont été synthétisés.

Le tableau II indique le poids moléculaire de certains peptides de formule (I), sous forme non cyclisée, évalué par spectrométrie de masse.

25

Tableau II

Peptide N°	Poids moléculaire (Daltons)
1 (12B)	1772
2 (14B)	1799
3 (18B)	3752
4 (19B)	3778
5 (20B)	3780
6 (21B)	2538
7 (22B)	3222
8 (23B)	1941

EXEMPLE 2 :**Evaluation par test immunoenzymatique d l'immunoréactivité des peptides selon l'invention**

5

Les échantillons de sérums de malades infectés par des rétrovirus VIH-1 du groupe O ont été obtenus par le Centre Pasteur de Yaoundé au Cameroun et ont été serotypés groupe O selon l'algorithme sérologique décrit dans *AIDS* (1977), 11, pp. 445-453. Un échantillon (Maryland) genotypé provient des Etats-

10 Unis. Ces échantillons ont été préalablement dilués en sérum humain négatif aux dilutions données dans le tableau III afin de disposer d'un volume suffisant pour les différents essais d'immunoréactivité.

15

Les peptides synthétiques utilisés ont été dissous dans l'eau à une concentration de 1 mg/ml (solution mère). Pour l'étape de sensibilisation de la phase solide (« coating »), 110 µl d'une solution à 2 µg/ml de chaque peptide (obtenue par dilution de la solution mère avec de la solution tampon carbonate 0,1 M) ont été ajoutés à chaque cupule de plusieurs plaques de microtitrage Microtiter™ (NUNC). Après incubation pendant une nuit à température ambiante,

20 les microplaques ont été d'abord lavées avec une solution tampon Tris NaCl pH 7,4 contenant 0,1% de Tween® 20 et du merthiolate de sodium à 0,001%, puis saturées avec une solution de PBS contenant 0,5% de Régilait™ (lait écrémé desséché). Après aspiration de la solution de la saturation, les plaques ont été chauffées pendant 10 mn à 50°C.

25

Les échantillons de sérums ont été dilués au 1/5 avec une solution de lait écrémé (en tampon citrate additionné de rouge de phénol à 0,01%, de chloroforme à 0,25% et de Kathon à 0,25%), déposés sur les cupules des plaques et mis à incuber pendant 30 mn à 40°C.

30

Après lavage avec une solution tampon Tris NaCl pH 7,4 contenant 0,1% de Tween® 20 et du merthiolate de sodium à 0,001%, 100 µl d'une solution de conjugué d'anticorps de chèvre anti IgG et IgM humaines marqués à la peroxydase du raifort, contenant comme conservateur du merthiolate de sodium

35 à 0,01%, en solution dans une solution tampon citrate additionnée de glycérol à 30% et du sérum normal de veau foetal à 25%, ont été ajoutés à chaque cupule des plaques puis ces dernières ont été mises à incuber pendant 30 mn à 40°C.

Après lavage avec une solution tampon Tris NaCl pH 7,4 contenant du Tween® 20 à 0,1% et du merthiolate de sodium à 0,001%, le développement de la coloration a été obtenu par addition dans chaque cupule de 100 µl de O-phenylène diamine en solution dans du peroxyde d'hydrogène. Les microplaques ont été ensuite mises à incuber pendant 30 mn à température ambiante et à l'obscurité. La réaction colorée a été ensuite arrêtée par addition de 50 µl d'acide sulfurique 4N. L'absorbance (A) a été déterminée à 490 et 620 nm.

L'absorbance, ou densité optique, relative (A490-A620) lue dans chaque cupule est proportionnelle à l'immunoréactivité de chaque peptide. Cela indique l'aptitude de chaque peptide à réagir avec l'échantillon biologique avec lequel est effectué l'essai.

La réactivité des peptides de l'invention, peptides N° 2 (14B), N° 3 (18B), N° 4 (19B), N° 6 (21B), N° 7 (22B), N° 8 (23B) tous sous forme cyclisée, a été comparée à celle de trois peptides synthétiques homologues, ayant comme séquence une partie de la séquence naturelle de l'enveloppe (env) de rétrovirus VIH-1 du groupe O (2 peptides dérivés de l'isolat VAU et 1 peptide dérivé de l'isolat MVP 5180) et comportant un épitope immunodominant de la gp41.

Ces trois peptides, sous forme cyclisée, ont les séquences suivantes :

VAU 22 AA (désigné « VAU Rcy » sur le tableau III)

Leu Leu Asn Leu Trp Gly Cys Lys Asn Arg Ala Ile Cys Tyr Thr Ser Val Lys Trp
Asn
1 5 10 15
20
Lys Thr
22

VAU 35 AA (désigné « VAU long » sur le tableau III)

Arg Leu Leu Ala Leu Glu Thr Phe Ile Glu Glu Asn Glu Leu Leu Asn Leu Trp Gly
Cys
1 5 10 15
20
Lys Asn Arg Ala Ile Cys Tyr Thr Ser Val Lys Trp Asn Lys Thr
25 30 35

MVP 5180 (désigné « MVP 5180 » sur le tableau III)

Arg Leu Gln Ala Leu Glu Thr Leu Ile Gln Asn Gln Gln Arg Leu Asn Leu Trp Gly Cys

1

5

10

15

20

5 Lys Gly Lys Leu Ile Cys Tyr Thr Ser Val Lys Trp Asn Thr Ser

25

30

35

Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau III.

Tableau III

10

SERUM	PEPTIDES *								
	N° 2	N° 3	N° 4	N° 6	N° 7	N° 8	MVP 5180	VAU long	VAU-Rcy
	ABSORBANCE								
4280 au 1/50	0,022	0,686	0,201	0,286	0,689	0,033	0,382	0,013	0,021
NGO au 1/50	0,067	0,335	0,193	0,157	0,315	0,110	0,184	0,055	0,040
NJEM au 1/100	0,032	0,811	0,391	0,277	0,939	0,025	0,146	0,159	0,024
MBASSI au 1/100	1,217	1,150	0,747	2,134	2,010	2,683	0,248	0,120	0,257
WANG au 1/50	0,698	0,234	0,124	2,397	2,680	1,290	0,075	0,025	0,041
258 OUDI au 1/100	0,587	0,373	0,226	0,764	1,184	1,692	0,116	0,058	0,100
DO15 au 1/100	1,613	0,859	1,286	3,357	3,693	3,038	0,673	0,036	0,075
DJOU au 1/100	1,268	0,482	0,419	1,998	2,088	2,166	0,203	0,022	0,042
3600 au 1/100	0,482	0,360	0,249	0,716	0,801	0,933	0,206	0,025	0,058
3613 au 1/400	1,108	0,837	0,773	1,508	1,627	1,679	0,478	0,250	0,396
6111 au 1/100	0,596	0,348	0,202	0,850	1,207	1,009	0,226	0,087	0,180
625 au 1/50	0,838	0,338	0,264	2,045	2,122	1,791	0,202	0,069	0,165
Maryland au 1/400	0,524	0,370	0,285	0,734	0,844	1,229	0,241	0,054	0,168
3653 au 1/10	0,347	0,337	0,247	0,072	0,380	0,406	0,401	0,021	0,310

PHASE SOLIDE* : PEPTIDE 2µg/ml

Pour chaque peptide testé, les échantillons ont été rangés en quatre classes (a, b, c, et d) correspondant à divers niveaux de densité optique relative lue aux longueurs d'onde A492-A620 :

- - pour a : $DO < 0,100$,
- - pour b : $0,100 < DO < 0,500$,
- - pour c : $0,500 < DO < 1,000$,
- - pour d : $DO > 1,000$,

permettant ainsi d'évaluer le degré d'immunoréactivité des peptides. Les peptides les plus immunoréactifs sont ceux pour lesquels le plus grand nombre d'échantillons est trouvé dans les classes correspondant aux densités optiques les plus élevées.

Les résultats sont indiqués dans le tableau IV.

Tableau IV

CLASSE	PEPTIDES *								
	N° 2	N° 3	N° 4	N° 6	N° 7	N° 8	MVP 5180	VAU long	VAU-Rcy
	Nombre d'échantillons								
a	3	0	0	1	0	2	1	11	7
b	2	9	11	3	2	2	12	3	7
c	5	4	2	4	4	1	1	0	0
d	4	1	1	6	8	9	0	0	0

PHASE SOLIDE* : PEPTIDE 2 μ g/ml

Les résultats montrent que tous les peptides de l'invention testés réalisent une meilleure performance en immunoréactivité que les peptides de référence de l'art antérieur qui dérivent d'isolats naturels (MVP 5180, VAU). Les peptides de l'invention N°7 (22B), N°6 (21B), et N°8 (23B) s'avérant les plus immunoréactifs.

Revendications

1. Peptides synthétiques de type monomères de 13 à 33 acides aminés ou de type dimères de 26 à 66 acides aminés, sous forme linéaire ou sous forme cyclisée par l'intermédiaire de ponts disulfures inter-cystéines répondant à la formule générale (I) :



dans laquelle :

- 10 Δ représente un radical biotinyle, un radical biocytinyle, un atome d'hydrogène, un radical acétyle ($\text{CH}_3\text{CO-}$), une chaîne aliphatique pouvant contenir une ou deux fonctions thiol, aldéhyde ou amine, la chaîne aliphatique étant de préférence une chaîne alkyle de 1 à 6 atomes de carbone ou une chaîne alcényle de 2 à 6 atomes de carbone,
- 15 aminoalkylcarbonyle de 2 à 6 atomes de carbone,

-Z représente une séquence peptidique d'une des formules (II) à (X) :

- | | |
|--------------------------|--------|
| $\Xi_1\text{-Ser-}\Xi_2$ | (II) |
| $\text{Ser-}\Xi_2$ | (III) |
| $\Xi_1\text{-Ser}$ | (IV) |
| $\Xi_1\text{-Gln-}\Xi_2$ | (V) |
| $\text{-Gln-}\Xi_2$ | (VI) |
| $\Xi_1\text{-Gln}$ | (VII) |
| $\Xi_1\text{-Asn-}\Xi_2$ | (VIII) |
| $\text{Asn-}\Xi_2$ | (IX) |
| $\Xi_1\text{-Asn}$ | (X) |

dans lesquelles :

- Ξ_1 représente une séquence peptidique de 0 à 9 acides aminés et
- 30 Ξ_2 représente une séquence peptidique de 0 à 5 acides aminés.
- Θ représente une séquence peptidique de formule (XI) :



dans laquelle :

- (AA₁) représente soit un résidu lysine, soit un résidu arginine, soit un résidu ornithine,
- (AA₂) représente soit un résidu glycine, soit un résidu asparagine,
- (AA₃) représente soit un résidu lysine, soit un résidu arginine, soit un résidu ornithine,

- (AA₄) représente soit un résidu leucine, soit un résidu alanine, soit un résidu isoleucine, soit un résidu glutamine,
 - (AA₅) représente soit un résidu isoleucine, soit un résidu valine, soit un résidu leucine, soit un résidu thréonine, soit un résidu norleucine, soit un résidu norvaline,
- à condition toutefois que (AA₁), (AA₂), (AA₃), (AA₄) et (AA₅) ne forment jamais ensemble les séquences peptidiques -Lys Gly Lys Leu Ile- et -Lys Gly Lys Leu Val-,
- Ω, fixé sur le groupe -CO- de la sérine représente :
- un groupe hydroxyle (-OH) ou amino (-NH₂),
 - un radical alcoxy comportant de 1 à 6 atomes de carbone,
 - une séquence peptidique de formule (XII) ou (XIII) :
 - Val-(AA₆)-Trp Asn-(AA₇)-(AA₈) (XII)
 - Val-OH ou -Val-NH₂ (XIII)
 dans lesquelles :
 - (AA₆) représente un acide aminé différent de la lysine,
 - (AA₇) représente un acide aminé,
 - (AA₈) représente un résidu sérine ou thréonine,
 - ou une séquence peptidique de formule (Ia) :

$$-Z-TrpGlyCys-\Theta-CysTyrThrSer-\Omega' \quad (Ia)$$
 dans laquelle Z et Θ ont la définition donnée pour la formule (I) et Ω' représente un radical hydroxy (OH), un radical amino (NH₂), un radical alcoxy comportant de 1 à 6 atomes de carbone ou une séquence peptidique de formule (XII) ou (XIII).
2. Peptides synthétiques de formule (I) selon la revendication 1 dans laquelle (AA₅) représente soit un résidu valine, soit un résidu leucine, soit un résidu thréonine et lorsque Ω correspond à une séquence peptidique de formule (XII) (AA₆) représente soit un résidu glutamine, soit un résidu arginine.
3. Peptides synthétiques de formule (I) selon la revendication 1, dans laquelle :
- Δ représente un radical biotinyloxy, un atome d'hydrogène, ou une chaîne aliphatique pouvant contenir une ou deux fonctions thiol, aldéhyde ou amine, la chaîne aliphatique étant de préférence une chaîne alkyle de 1 à 6 atomes de carbone, ou une chaîne aminoalkylcarbonyloxy de 2 à 6 atomes de carbone,

-Z représente une séquence peptidique de formule (II) ou (V) dans lesquelles Ξ_1 représente une séquence peptidique de deux acides aminés et Ξ_2 représente Ξ_1 un acide aminé, ou une séquence de formule (IV) dans laquelle Ξ_1 représente trois acides aminés, ou une séquence peptidique de formule (VIII) dans laquelle

5 Ξ_1 représente une séquence peptidique de neuf, huit ou trois acides aminés et Ξ_2 une séquence peptidique de cinq acides aminés,

- Θ représente une séquence peptidique de formule :

-Lys Gly Arg Leu Val-

ou

10 -Arg Gly Arg Leu Val-

et

- Ω représente un groupe hydroxyle, la séquence peptidique (XIII) ou une séquence peptidique de formule :

15 - Val Arg Trp Asn Glu Thr.

4. Peptides synthétiques de formule (I), selon les revendications 1 ou 3, dans laquelle Z représente une séquence peptidique de formule :

- -Leu Leu Ser Ser-
- 20 • -Leu Leu Asn Ser-
- -Arg Leu Asn Ser-
- -Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ser-
- -Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ile -
- -Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser-
- 25 ou
- -Arg Ala Leu Glu Thr Leu Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser-

5. Peptides synthétiques de formule (I) selon les revendications 1 à 4, comportant de 16 à 50 acides aminés et incluant l'une des séquences suivantes:

30 Séquence N° 1 :

-LLSSWGCKGRLVCYTS-

ou

-Leu Leu Ser Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser-

1

5

10

15

35

Séquence N° 2 :

-LLNSWGCKGRLVCYTS-

ou

22

-Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser-

1

5

10

15

Séquence N° 3 :

-ALETLLQNQQLLSWGCRGLVCYTSVRWNET-

5 ou

-Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Arg Gly

1

5

10

15

Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr-

20

25

30

10 Séquence N° 4 :

-ALETLLQNQQLLNWGCGRGLVCYTSVRWNET-

ou

-Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ile Trp Gly Cys Arg Gly

1

5

10

15

15 Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr-

20

25

30

Séquence N° 5 :

-ALETLLQNQQLLDLWGCRGLVCYTSVRWNET-

20 ou

-Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asp Leu Trp Gly Cys Arg Gly

1

5

10

15

Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr-

20

25

30

25

Séquence N° 6 :

-LNQQRLLNSWGCKGRLVCYTSV-

ou

-Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr

30

1

5

10

15

Thr Ser Val-

20

Séquence N° 7 :

35 -RALETLLNQQRLLNSWGCKGRLVCYTSV-

ou

-Arg Ala Leu Glu Thr Leu Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys

1

5

10

15

Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val-
20

Séquence N° 8 :

5 -RLNSWGCKGRLVCYTSV-
ou

-Arg Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val-
1 5 10 15

10 6. Peptides synthétiques, selon les revendications 1 à 5, de séquence :

Peptide N° 1 (12B) :

LLSSWGCKGRLVCYTS

ou

15 Leu Leu Ser Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser
1 5 10 15

Peptide N° 2 (14B) :

LLNSWGCKGRLVCYTS

ou

20 Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser
1 5 10 15

Peptide N° 3 (18B) :

ALETLLQNQQLLNSWGCRGRLVCYTSVRWNET

25 ou

Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Arg Gly
1 5 10 15

Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr
20 25 30

30

Peptide N° 4 (19B) :

ALETLLQNQQLLNIWGCRGRLVCYTSVRWNET

ou

35 Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asn Ile Trp Gly Cys Arg Gly
1 5 10 15

Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr
20 25 30

Peptide N° 5 (20B) :

ALETLLQNQQLLDLWGCRGRLVCYTSVRWNET

ou

5 1 5 10 15
 -Ala Leu Glu Thr Leu Leu Gln Asn Gln Gln Leu Leu Asp Leu Trp Gly Cys Arg Gly
 Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val Arg Trp Asn Glu Thr
 20 25 30

Peptide N° 6 (21B) :

10 LNQQRLNSWGCKGRLVCYTSV

ou

Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr
 1 5 10 15
 Thr Ser Val
 15 20

Peptide N° 7 (22B) :

RALETLLNQQRLLNSWGCKGRLVCYTSV

ou

20 Arg Ala Leu Glu Thr Leu Leu Asn Gln Gln Arg Leu Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys
 1 5 10 15
 Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val
 20 25

25 Peptide N° 8 (23B) :

RLNSWGCKGRLVCYTSV

ou

Arg Leu Asn Ser Trp Gly Cys Lys Gly Arg Leu Val Cys Tyr Thr Ser Val
 1 5 10 15
 30

7. Composition contenant un ou plusieurs peptides synthétiques de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 1 à 6.

8. Composition contenant au moins deux peptides de formule (I), selon la revendication 1.

35

9. Composition contenant un ou plusieurs peptides synthétiques de formule (I) selon la revendication 1 et un ou plusieurs peptides recombinés VIH-1 du groupe O.
- 5 10. Composition contenant un ou plusieurs peptides synthétiques de formule (I), selon la revendication 1, et un ou plusieurs peptides synthétiques ou recombinés VIH-1 et/ou VIH-2.
- 10 11. Procédé d'immunodosage mettant en oeuvre un ou plusieurs peptides synthétiques de formule (I), selon l'une quelconque des revendications 1 à 6.
12. Procédé d'immunodosage mettant en oeuvre une composition selon l'une quelconque des revendications 7 à 10.
- 15 13. Trousse de diagnostic incluant au moins un peptide synthétique de formule (I), selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, ou une composition selon l'une quelconque des revendications 7 à 10.

THIS PAGE BLANK (USPTO)